

COMPARISON OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SOME COCOR BEBEK LEAF EXTRACT (*Kalanchoe pinnata*) USING THE DPPH METHOD

Diana Sylvia, Fatimah, Dina Pratiwi

Sekolah Tinggi Farmasi Muhammadiyah, Jl. Tangerang KH Syekh Nawawi
(Raya Pemda) Km.4 No. 13, Tangerang, Banten.

Korespondensi: Fatimah (fatimahfarmasi10@gmail.com)

ARTICLE HISTORY

|Received: 29 December 2019

|Revised: 23 January 2020

|Accepted: 30 January 2020

Abstract

Cocor bebek leaves, often used as traditional medicine because they have various kinds of compound, one of which is antioxidant. This study aims to determine secondary metabolites, antioxidant activity and IC_{50} values contained in some extracts of cocor bebek leaves. This research was conducted at several stages, which included making extracts using maceration method using various levels of polarity, each extract was identified by secondary metabolite compound, water content test, total phenol test using the folin ciocalteau method and the antioxidant activity test with DPPH and vitamin C as a comparison. The result of phytochemical screening tests on ethyl acetate extract and ethanol 70% have flavonoid, phenol, tannin and steroid compounds. While the n-hexane extract contain phenol compounds, flavonoids and tannins. Based on the testing of the total phenol content in the n-hexane extract it was 0,83 mg/g, the ethyl acetate extract obtained the total phenol content of 4,77 mg/g, while the 70% ethanol extract yield 8,94 mg/g. Antioxidant activity of n-hexane extract had moderate activity with IC_{50} value of 144,55 ppm, ethyl acetate extract had moderate antioxidant activity with IC_{50} value of 118,96 ppm and in ethanol 70% had strong antioxidant activity compared to n-hexane extract and ethyl acetate extract with a IC_{50} value of 67,19 ppm.

Keyword: Antioxidant, Leaf cocor bebek, Multilevel extraction, IC_{50} value

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BEBERAPA EKSTRAK DAUN COCOR BEBEK (*Kalanchoe pinnata*) DENGAN MENGGUNAKAN METODE DPPH

Abstrak

Daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) sering dijadikan sebagai obat tradisional karena memiliki berbagai macam khasiat salah satunya antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan serta nilai IC_{50} yang terkandung dalam beberapa ekstrak daun cocor bebek. Penelitian ini dilakukan pada beberapa tahap yaitu meliputi pembuatan ekstrak dengan metode maserasi menggunakan berbagai tingkat kepolaran yaitu n-heksan, etil asetat, etanol 70%, masing-masing ekstrak dilakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder, uji kadar air, uji total fenol dengan menggunakan metode *Folin Ciocalteau* dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan vitamin C sebagai pembanding. Hasil

pengujian skrining fitokimia pada ekstrak etil asetat dan etanol 70% memiliki kandungan senyawa flavonoid, fenol, tanin, dan steroid sedangkan pada ekstrak n-heksan memiliki kandungan senyawa fenol, flavonoid dan tanin. Berdasarkan pengujian kandungan total fenol pada ekstrak n-heksan mendapatkan hasil 0,83 mg/g, pada ekstrak etil asetat mendapatkan hasil kandungan total fenol sebesar 4,77 mg/g, sedangkan pada ekstrak etanol 70% mendapatkan hasil 8,94 mg/g. Aktivitas antioksidan ekstrak n-heksan memiliki aktivitas yang sedang dengan nilai IC_{50} 144,55 ppm, ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang sedang dengan nilai IC_{50} 118,96 ppm, pada ekstrak etanol 70% memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dibandingkan dengan ekstrak n-heksan dan ekstrak etil asetat dengan nilai IC_{50} sebesar 67,19 ppm.

Kata kunci: Antioksidan, Daun Cocor Bebek, Ekstraksi Bertingkat, Nilai IC_{50}

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang terkenal dengan kekayaan alam yang dimiliki, diantaranya adalah berbagai jenis tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat. Obat tradisional telah dikenal dan digunakan secara turun-temurun oleh masyarakat. Banyak masyarakat yang jauh dari pelayanan kesehatan memanfaatkan tanaman sebagai obat.¹

Salah satu obat tradisional yang dijadikan sebagai obat adalah daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*), karena memiliki berbagai macam khasiat seperti: antikanker, antidiabetes, antifungal, antimikroba, antiinflamasi dan analgesik, antiulser, antiasma, antioksidan, dan aktivitas sedatif dari sistem saraf.²

Antioksidan merupakan suatu substansi pada konsentrasi kecil secara relevan mampu menghambat atau mencegah oksidasi pada substrat yang disebabkan oleh radikal bebas.³ Radikal bebas yang dihasilkan secara terus menerus selama proses metabolisme normal, dianggap sebagai penyebab terjadinya kerusakan fungsi sel—sel tubuh yang akhirnya menjadi pemicu timbulnya penyakit degeneratif.⁴

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Bahan dasar yang digunakan yaitu Simplisia daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) diperoleh dari kebun tanaman di kampung Sodong Pabuaran, Desa Sodong RT.002 RW.003, Kecamatan Tigaraksa, Kabupaten Tangerang, Provinsi Banten, Etanol 70%, larutan DPPH, serbuk magnesium, kloroform, asam sulfat pekat, serbuk vitamin C, etil asetat, N-heksan, HCl pekat, asam anhidrat, $FeCl_3$, asam galat, *Folin Ciocalteu*, Na_2CO_3 15%, metanol p.a, larutan DPPH 0,002%, reagen Mayer, reagen Dragendroff, aquadest.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rotary Evaporator (Eyela), Spektrofotometer UV-Vis (Optizen), desikator, kuvet (Optizen), oven (Mettler).

Metode

Pembuatan Simplisia

Daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) yang telah dikumpulkan sebanyak 10 kg, disortasi basah, dipisahkan dari ranting, kemudian dicuci menggunakan air mengalir sampai bersih. Selanjutnya daun cocor bebek dirajang. Daun cocor bebek dikeringanginkan dan di oven dengan suhu 40° C selama 96 jam sampai kering,

kemudian simplisia disortasi kering dan dibuat menjadi serbuk dengan menggunakan blender.⁵

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) yaitu dengan menggunakan metode ekstraksi cara dingin dengan cara maserasi dan diekstraksi berdasarkan tingkat kepolaran dengan memakai pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol 70%. Sebanyak 400 gram simplisia diekstraksi secara maserasi dengan pelarut n-heksan (nonpolar) sebanyak 2000 mL, didiamkan selama 24 jam sambil diaduk, kemudian disaring. Filtrat ditampung dan residunya dimaserasi ulang dengan cara yang sama sebanyak tiga kali pengulangan, yaitu sampai filtratnya berwarna bening. Filtrat gabungan yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan penguap vakum pada suhu 60° C sampai diperoleh ekstrak pekat (bebas pelarut). Residu dikeringkan pada suhu kamar sampai bebas pelarut. Dengan cara yang sama residu berturut-turut dimaserasi lagi dengan etil asetat (semi polar) sebanyak 2000 mL dan dengan etano 70% (polar) sebanyak 2000 mL.⁶

Uji Kadar Air

Keringkan cawan kosong yang akan digunakan dalam oven selama 15 menit atau sampai berat stabil, kemudian dimasukkan dalam desikator selama 30 menit untuk didinginkan, dan ditimbang. Sekitar 1 gram sampel ditimbang dan diletakkan dalam cawan, kemudian dipanaskan dalam oven selama 3-4 jam pada suhu 105°-110° C. Cawan kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali.⁷

Uji Skrining Fitokimia

a. Identifikasi Alkaloid

Ekstrak cocor bebek sebanyak 0,5 gram, ditambahkan 5 mL HCl 2N, dipanaskan pada penangas air. Setelah dingin campuran disaring dan filtrat ditambahkan beberapa tetes reagen Mayer. Hasil positif mengandung alkaloid jika ditambahkan pereaksi Mayer akan membentuk endapan putih dan apabila ditambahkan pereaksi *Dragendroff* akan menghasilkan warna merah jingga.⁸

b. Identifikasi flavonoid

Ekstrak cocor bebek sebanyak 0,5 gram, ditambahkan 2 mL etanol 70%, kemudian diaduk dan ditambahkan serbuk magnesium 0,5 gram dan 3 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna jingga hingga merah menunjukkan adanya flavon, merah hingga merah padam menunjukkan flavono, merah padam hingga merah keunguan menunjukkan flavonon.⁸

c. Identifikasi Steroid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambahkan kloroform dalam tabung reaksi yang kering, lalu ditambahkan 10 tetes asam asetat anhidrat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna merah kemudian berubah menjadi biru dan hijau.⁹

d. Identifikasi Tanin

Ekstrak sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan aquadest dan FeCl₃ sebanyak 3 tetes. Jika warna yang dihasilkan biru kehitaman/hijau kehitaman, biru, hijau, dan biru tua menunjukkan positif mengandung tanin.¹⁰

e. Identifikasi Fenol

Sebanyak 1 mL dari masing-masing ekstrak daun cocor bebek dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan FeCl₃ 5% sebanyak 2-3 tetes. Sampel yang mengandung fenolik akan mengalami perubahan warna biru atau hijau kehitaman.⁷

Uji Total Fenol

Pembuatan Larutan Asam Galat 100 ppm

Sebanyak 10 mg asam galat ditimbang dan dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 100 mL dengan konsentrasi 10, 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Diambil 0,5 mL masing-masing konsentrasi standar tersebut ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL aquadest. Larutan tersebut dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit, dan semua larutan diukur absorbansinya pada λ 734,12 nm lalu dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansinya.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Salah satu konsentrasi standar diukur untuk mencari panjang gelombang maksimum dengan blanko sebagai pembanding.

Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Daun Cocor Bebek

Persiapkan larutan sampel ditimbang dengan 50 mg ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol 70%. Masing-masing kemudian dilarutkan dengan air ke dalam labu ukur 20 mL. Larutan uji diambil masing-masing 0,5 mL, kemudian ditambahkan dengan 2 mL Na_2CO_3 15% dan divorteks, lalu tambahkan 0,3 mL reagen Folin Ciocalteu dan divorteks, tambahkan sebanyak 2,2 mL aquadest. Larutan tersebut dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi larutan spektrofotometri UV-Vis pada λ 734,12 nm. Hasilnya dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat dalam mg/L ekstrak.

Serapan yang didapatkan dihitung konsentrasinya dengan persamaan garis lurus yang didapat dari kalibrasi standar asam galat.

Uji Aktivitas Antioksidan

Pembuatan Larutan DPPH 0,002%

Sebanyak 2 mg ekstrak, dilarutkan dengan metanol p.a dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Volume dicukupkan dengan metanol p.a hingga tanda batas, lalu dihomogenkan (sebelumnya labu ukur sudah dilapisi aluminium foil) kemudian ditempatkan dalam botol gelap.

Pembuatan Larutan Blanko 1000 ppm

Pipet sebanyak 2 mL larutan DPPH, ditambahkan metanol p.a sampai 2 mL, kemudian divorteks. Larutan blanko diinkubasi selama 30 menit. Serapan diukur menggunakan spektrofotometri UV_Vis pada panjang gelombang maksimum.

Larutan Standar Induk Untuk Vitamin C 500 ppm

Timbang 10 mg vitamin C, dimasukkan ke dalam labu ukur 20 ml dan dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Sebanyak 2 ml larutan DPPH ditambahkan metanol p.a 2 ml. dan diinkubasi selama 30 menit. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 515-520 nm.

Pengukuran Aktivitas Pengikatan Radikal Bebas DPPH dengan Vitamin C

Pengujian dilakukan dengan memipet masing-masing 5 μl , 10 μl , 20 μl , 40 μl , 80 μl , dan 160 μl dari larutan induk vitamin C murni 500 ppm, campuran ditambah 2 ml DPPH lalu dicukupkan volumenya sampai 20 ml dengan metanol p.a sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; dan 4 ppm, kemudian

dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit. Selanjutnya serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Pembuatan larutan uji ekstrak daun cocor bebek

Ekstrak n-heksan, ekstrak etil asetat, ekstrak etanol 70% masing-masing ditimbang 0,1 g, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a. larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 20 ml. Volume dicukupkan dengan metanol p.a sampai tanda batas.

Pengukuran Aktivitas Pengukuran Radikal Bebas DPPH dengan Sampel

Ekstrak n-heksan dilakukan dengan cara memipet masing-masing 310 ppm, 620 ppm, 1240 ppm, 2490 ppm, 5000 ppm, 10.000 ppm. Pada ekstrak etil asetat dipipet masing-masing 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 4000 ppm, 8000 ppm. Pada ekstrak etanol 70% dipipet masing-masing 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 4000 ppm. Dari larutan stok sampel 500 ppm, campuran ditambah 2 ml DPPH lalu dicukupkan volumenya sampai 20 ml dengan metanol p.a sehingga, pada ekstrak n-heksan diperoleh larutan dengan konsentrasi 7,78125; 15,5625; 31,125; 62,25; 125; dan 250 ppm. Pada ekstrak etil asetat diperoleh larutan dengan konsentrasi 6,25; 12,5; 25; 50; 100; dan 200 ppm. Pada ekstrak etanol 70% diperoleh larutan dengan konsentrasi 12,5; 25; 50; dan 100 ppm. Selanjutnya dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit, lalu diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm.

Analisis Data

Penentuan Nilai IC₅₀ (Inhibitory Concentration)

Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah dengan IC₅₀ (*inhibitor concentration*). IC₅₀ merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mendeteksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀, maka semakin tinggi aktivitas antioksidan pada sampel. Persentase inhibisi terhadap radikal DPPH dan masing-masing konsentrasi larutan sampel dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs Blanko} - \text{Abs Sampel}}{\text{Absorban Blanko}} \times 100\%$$

persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, konsentrasi sampel dan persen inhibisi yang didapat diplotkan masing-masing pada sumbu x dan y dalam persamaan regresi linear $y = b(x) + a$. Persamaan IC₅₀ adalah konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50% konsentrasi awal. Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50.

Teknik Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini yaitu dianalisis secara regresi linier dengan menggunakan *Microsoft Excel* yang digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀ dan untuk melihat perbandingan aktivitas antioksidan beberapa ekstrak daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap nilai IC₅₀ sebagai parameter aktivitas antioksidan serta total fenol. Nilai IC₅₀ pada ekstrak daun cocor bebek dikatakan sangat kuat jika memiliki konsentrasi kurang dari 50 ppm.

Hasil dan Pembahasan

Preparasi Sampel

Tanaman cocor bebek pada penelitian ini yang digunakan yaitu bagian daun cocor bebek sebanyak 10 kg daun cocor bebek disortasi basah. Selanjutnya daun cocor bebek dicuci hingga bersih dengan air mengalir, lalu dirajang untuk memudahkan dalam proses mengoven selama 96 jam pada suhu 40° hingga kering,

kemudian daun yang sudah kering disortasi kering setelah itu disimpan dalam wadah kedap udara dan kemudian simplisia dihaluskan menggunakan blender, selanjutnya disimpan dalam wadah bersih, kering dan dilakukan pengujian selanjutnya.

Ekstraksi

Pembuatan ekstrak daun cocor bebek (*kalanchoe pinnata*) menggunakan metode ekstraksi cara dingin dengan cara dimaserasi. Pelarut yang digunakan yaitu n-heksan, etil asetat, dan etanol 70% dengan metode maserasi bertingkat. Simplisia yang telah dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 400 gram dan dimasukkan pelarut n-heksan sebanyak 2 L menggunakan perbandingan (1:5). Setelah pelarut n-heksan dimasukkan kedalam wadah campuran tersebut dilakukan pengadukan, setelah 24 jam dilakukan remaserasi sebanyak 2 L pelarut sampai 3x remaserasi terhitung setelah maserasi awal. Setelah itu residu dikeringkan pada suhu kamar sampai bebas pelarut, kemudian ditambahkan dengan pelarut etil asetat sebanyak 2 L menggunakan perbandingan (1:5). Setelah itu residu dikeringkan pada suhu kamar sampai bebas pelarut, kemudian ditambahkan dengan pelarut etanol 70% sebanyak 2 L menggunakan perbandingan (1:5). Masing-masing filtrat pada ketiga pelarut tersebut digabungkan dan dilakukan proses pengentalan menggunakan *rotary evaporator*, dan didapat ekstrak kental n-heksan 11,0679 gram dengan hasil rendemen 2,76%, ekstrak etil asetat menjadi 9,7563 gram dengan hasil rendemen 2,439%, dan ekstrak etanol menjadi 32,0666 gram dengan hasil rendemen 8,01%.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia ini merupakan uji kualitatif untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam setiap sampel ekstrak sehingga dapat diketahui metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan.

Tabel 1. Hasil uji senyawa fitokimia

No	Golongan Senyawa	Ekstrak		
		N-heksan	Etil Asetat	Etanol 70%
1.	Alkaloid			
	- Mayer	-	-	-
	- Dragendorff	-	-	-
2	Flavonoid	+	+	+
3	Fenol	+	+	+
4	Steroid	-	+	+
5	Tanin	+	+	+

Keterangan : Tanda (+) positif mengandung senyawa metabolit sekunder
Tanda (-) negatif mengandung senyawa metabolit sekunder

Uji Kadar Air

Pengujian kadar air pada ekstrak kental daun cocor bebek digunakan dengan metode gravimetri yaitu dengan cara cawan kosong yang akan digunakan dikeringkan terlebih dahulu dalam oven selama 15 menit atau sampai berat tetap, kemudian didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang. Kira-kira sebanyak 2 gram sampel ditimbang dan diletakkan dalam cawan kemudian dipanaskan dalam oven selama 3-4 jam pada suhu 105^o-110^oC. Cawan kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Kadar air (berat basah/bb).⁷

Tabel 2. Hasil pengujian kadar air pada ekstrak daun cocor bebek

No	Sampel Ekstrak	Kadar Air
1	n-Heksan	3, 02 %
2	Etil Asetat	12,67%
3	Etanol 70%	26, 85%

Tingginya kadar air dapat disebabkan karena proses pengeringan yang kurang optimal.¹¹ Serta absorpsi air ke dalam ekstrak saat proses penyimpanan akibat lingkungan yang lembab.¹²

Uji Total Fenol

Pengukuran total fenol digunakan dengan metode *Folin-Ciocalteu* yang berdasarkan kekuatan mereduksi dari gugus hidroksi fenol dengan menggunakan standar asam galat. Asam galat dipilih karena merupakan substansi yang murni dan stabil. Reaksi fenol dan *Folin-Ciocalteu* akan terlihat dari adanya warna kuning dan dengan menambahkan sodium karbonat akan memberikan warna biru. Semakin biru larutan menunjukkan semakin tingginya absorbansi.¹³

Hasil pengukuran panjang gelombang serapan maksimum total fenol yaitu menghasilkan serapan maksimum pada panjang gelombang 734,12 nm. Penentuan kandungan total fenolik bertujuan untuk melihat korelasi antara aktivitas antioksidan dengan kandungan total fenolik. Kadar total fenol dihitung dengan memasukkan data nilai serapan sampel ke dalam persamaan garis regresi linear $y = bx+a$ yang diperoleh dari kurva kalibrasi asam galat. Hasil kandungan fenol total dalam tumbuhan dinyatakan dalam satuan GAE (*gallic acid equivalent*) yaitu mg konsentrasi ekstrak per gram sampel (mg/g). Asam galat merupakan senyawa fenolik dengan tiga gugus hidroksi fenolat yang sudah dikenal memiliki aktivitas antioksidan.¹⁴

Tabel 3. Hasil Persamaan Regresi Linear Asam Galat dan Nilai Total Fenol

Sampel	Nilai Total Fenol	Persamaan Regresi Linear
Ekstrak n-Heksan	0,83 mg/g	$y = 0,012x - 0,093$ $R = 0,991$
Ekstrak Etil Asetat	4,77 mg/g	
Ekstrak Etanol 70%	8,94 mg/g	

Hasil ketiga ekstrak tersebut disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak n-heksan dan ekstrak etil asetat. Menunjukkan hasil yang berbeda karena tingkat kepolarannya juga berbeda. Hal ini dikarenakan ekstrak etanol 70% secara sekuensial lebih efektif untuk melarutkan komponen dari fenolik dibandingkan dengan ekstrak n-heksan dan ekstrak etil asetat.¹⁵

Hal ini diduga karena pelarut etanol 70% merupakan suatu senyawa polar sehingga mudah untuk dihilangkan ketika larut dengan senyawa organik. Pelarut yang bersifat polar mampu melarutkan senyawa fenol lebih banyak sehingga kadar total fenol pada ekstrak menjadi tinggi.¹⁶

Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian pada aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*). Metode ini dipilih karena merupakan metode

yang sederhana, mudah, cepat dan hanya memerlukan sedikit sampel untuk pengujian aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam.¹⁷

Prinsip pada pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif ini yaitu adanya perubahan intensitas warna ungu dari larutan DPPH. Perubahan warna yang terjadi akan memberikan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH ketika diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga dapat diketahui nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ dapat didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa yang diuji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar nilai aktivitas antioksidan.¹⁷

Hasil pengukuran panjang gelombang serapan maksimum larutan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) pada pelarut metanol menghasilkan serapan maksimum pada panjang gelombang 515,22 nm.

Tabel 4. Nilai IC₅₀ Ekstrak n-Heksan Daun Cocor Bebek

Nilai IC ₅₀ Ekstrak n-heksan				
Y	A	B	R	X
50	7,7091	0,2936	0,9683	144,04
50	6,543	0,2996	0,9693	145,05
Rata-rata nilai x				144,55

Tabel 5. Nilai IC₅₀ Ekstrak Etil Asetat Daun Cocor Bebek

Nilai IC ₅₀ Ekstrak Etil Asetat				
Y	A	B	R	X
50	4,9929	0,3786	0,974	118,88
50	4,7308	0,3803	0,975	119,04
Rata-rata nilai x				118,96

Tabel 6. Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanol 70% Daun Cocor Bebek

Nilai IC ₅₀ Ekstrak Etanol 70%				
Y	A	B	R	X
50	3,5901	0,678	0,997	68,45
50	6,3815	0,6617	0,993	65,92
Rata-rata nilai x				67,19

Tabel 7. Nilai IC₅₀ Vitamin C

Nilai IC ₅₀ Vitamin C				
Y	A	B	R	X
50	24,941	2,593	0,959	1,90
50	24,115	5,053	0,969	1,86
Rata-rata nilai x				1,88

Berdasarkan data **Tabel 4, 5, dan 6**, hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% memiliki sifat antioksidan yang kuat. Molyneux¹⁷ mengatakan bahwa semakin tinggi nilai IC₅₀ maka semakin tinggi pula nilai antioksidan yang terkandung didalamnya. Dari ketiga ekstrak diatas ekstrak etanol 70% mempunyai kandungan antioksidan yang kuat dibandingkan dengan ekstrak n-heksan dan ekstrak etil asetat. Karena ekstrak etanol 70% mempunyai tingkat kepolaran yang tinggi dibandingkan dengan ekstrak n-heksan dan ekstrak etil asetat sehingga hasil yang didapatpun lebih kuat. Perbandingan jenis pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi mempengaruhi aktivitas antioksidan yang diperoleh. Hal ini diduga karena didalam sampel daun cocor bebek banyak terdapat senyawa bioaktif yang bersifat polar jika dibandingkan dengan senyawa bioaktif yang bersifat nonpolar dan semipolar sehingga pelarut polar (etanol 70%) lebih menarik komponen bioaktif yang ada pada daun cocor bebek. Salah satu senyawa metabolit sekunder yang dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan adalah flavonoid. Flavonoid sebagai antioksidan secara langsung adalah dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menstabilkan radikal bebas yang reaktif dan bertindak sebagai scavenger/penangkal radikal bebas secara langsung.¹⁸ Dan vitamin C sebagai pembanding mempunyai hasil yang positif dengan nilai IC₅₀ 1,88 ppm dan dikategorikan sebagai antioksidan yang sangat kuat karena vitamin C merupakan antioksidan alami.¹⁹

Hubungan Perbandingan Aktivitas Antioksidan dan Total Fenol

Tabel 8. Perbandingan Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak n-heksan, Ekstrak Etil Asetat dan Ekstrak Etanol 70%

No	Sampel	Nilai IC ₅₀	Total Fenol (mg/GAE*)
1	Ekstrak n-heksan	144,55	0,915
2	Ekstrak etil asetat	118,96	6,93
3	Ekstrak etanol 70%	67,19	8,65

Berdasarkan **Tabel 7**. Menurut Huang²⁰ hubungan antara total fenol dan aktivitas antioksidan yaitu semakin rendah nilai IC₅₀ maka kandungan total fenol semakin tinggi, sehingga aktivitas antioksidan berbanding lurus dengan total fenol, semakin tinggi kandungan fenol dalam suatu bahan semakin tinggi pula aktivitasnya sebagai antioksidan. Ekstrak etanol 70% daun cocor bebek memiliki kadar total fenol tinggi hal ini karena potensi senyawa fenolik sebagai antioksidan disebabkan oleh keberadaan gugus hidroksil dalam senyawa fenol. Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka ion fenolat yang terbentuk pun semakin banyak. Pada ekstrak n-heksan dan etil asetat memiliki kandungan total fenol yang rendah. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Wedaswari²¹ perbedaan nilai ini dipengaruhi oleh tingkat kepolaran pelarut yang digunakan terhadap senyawa metabolit yang terdapat pada sampel. Bila kandungan senyawa fenolik di dalam sampel tinggi maka aktivitas antioksidannya akan tinggi. Diduga dengan adanya peningkatan total fenol maka terdapat aktivitas antioksidan yang berlangsung dan semakin besar intensitas warna biru maka semakin besar juga kandungan fenolik yang terdapat pada sampel.²²

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Ekstrak n-heksan memiliki metabolit sekunder flavonoid, fenol dan tanin pada ekstrak etil asetat memiliki metabolit sekunder flavonoid, fenol, steroid, dan tanin, dan pada ekstrak etanol 70% memiliki metabolit sekunder flavonoid, fenol, steroid dan tanin.
2. Ekstrak etanol 70% mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat dibandingkan dengan ekstrak n-heksan dan ekstrak etil asetat yang sedang.
3. Nilai IC₅₀ yang didapat menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% yaitu 67,19 ppm (kategori antioksidan kuat), ekstrak etil asetat yaitu 118,96 ppm (kategori antioksidan sedang) dan ekstrak n-heksan yaitu 144,55 ppm (kategori antioksidan sedang).

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis ucapkan kepada Seluruh Sivitas Akademika Sekolah Tinggi Farmasi Muhammadiyah Tangerang yang telah memberikan sumbangsih terhadap penelitian penulis.

Daftar Pustaka

1. Rahman N, Bahirul P, Diah AWM. Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun salam (*syzgium polyanthum*) dengan menggunakan *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). J Akad Kim. 2014;3(3);143-149.
2. Putri V, Hasanah AN. Review: profiling senyawa kuersetin dari tanaman cocor bebek (*kalanchoe pinnata*) dengan menggunakan berbagai metode analisis. J Farmaka.2017;15(1);134–14.
3. Isnindar, Wahyuono S, Setyowati EP. Isolasi dan identifikasi senyawa antioksidan daun kesemek (*diospyros kaki thunb.*) dengan metode dpsh (*2,2-difenil-1- pikrilhidrazil*). Maj Obat Tradis. 2011;16(3);157-164.
4. Juniarti, Osmeli D, Yuhernita. Kandungan senyawa kimia , uji toksisitas (*brine shrimp lethality test*) dan antioksidan (*1,1-diphenyl-2- pikrilhidrazil*) dari ekstrak daun saga (*abrus precatorius L .*). Makara Sains. 2009;13(1);50–54.
5. Safitri AR. (2013). Uji efek analgetik infusa daun cocor bebek (*kalanchoe pinnata (lam.)pers.*) terhadap mencit jantan galur swiss yang diinduksi dengan asam asetat [Skripsi]. Pontianak: Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura; 2013. 1-8.
6. Putri IJ, Fauziyah, Elfita. Aktivitas antioksidan daun dan biji buah nipah (*nypa fruticans*) asal pesisir banyuasin sumatera selatan dengan metode dpsh. Maspari J. 2013;5(1);16-21.
7. Huliselan YM, Runtuwewe MJR, Wewengkang DS. (2015). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan dari daun sesewanua (*clerodendron squamatum vahli*). J Ilm Farm. 2015;4(3);155–163.
8. Mojab F, Kamalinejad M, Ghaderi N, Vahidipour HR.(2003). Phytochemical Screening of some species of iranian plants. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2003;2(2); 77-82.
9. Harborne JB. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.

- Bandung: Penerbit ITB; 1987.
10. Farnsworth NR. Biological and phytochemical screening of plants. *J Pharm Sci.* 1966;55(3);225-276.
 11. Prasetyo, Inorah E. Pengelolaan budidaya tanaman obat-obatan (bahan simplisia). Bengkulu: Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB; 2013.
 12. Saifudin A, Rahayu V, Teruna HY. Standarisasi bahan obat alam. Yogyakarta: Graha Ilmu; 2011.
 13. Senet MRM, Raharja IGMAP, Darma IKT, Prastakartini KT, Dewi NMA, Partawa IMO. Penentuan Kandungan Total Flavonoid Dan Total Fenol Dari Akar Kersen (*Muntingia Calabura*) Serta Aktivasnya Sebagai Antioksidan. *J Chem.* 2018;12(1);13–18.
 14. Saeed N, Khan MR, Shabbir M. Antioxidant activity , total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *torilis leptophylla* L. 2012;12(1);1472-6882.
 15. Taroreh M, Raharjo S, Hastuti P, Murdiati A. Ekstraksi daun geddi (*Abelmoschus Manihot* L) secara sekuensial dan aktivitas antioksidannya. *Agritech.* 2015;3(3);280-287.
 16. Lestari DM, Mahmudati N, Sukarsono, Nurwidodo, Husamah. Aktivitas antioksidan ekstrak fenol daun gayam (*inocarpus fagiferus fosb*). *Biosfera.* 2018;35(1);37–43.
 17. Molyneux, P.(2004). The use of the stable free radical diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Jurnal Scencei and Technology.* 2004: 26;211-219.
 18. Nijveldt RJ, et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr.* 2001;74;418-425.
 19. Sayuti K, Yenrina R. Antioksidan alami dan sintetik. Padang: Andalas University Press; 7, 10, 15, 18, 32, 37-39, 47, 76.
 20. Huang D, Ou B, Prior RL. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem.* 2005;53(6); 1841-1856.
 21. Wedaswari IAI. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi daun sirih merah (*piper crocatum*) dengan metode rancimat dan identifikasi dengan Lc-Ms [Skripsi]. Bogor: Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pertanian Bogor; 2018.
 22. Dungir SG, Katja DG, Kamu VS. Aktivitas antioksidan ekstrak fenolik dari kulit buah manggis (*garcinia mangostana* L.). *Jurnal Kimia Unsrat* 2012;1(1);11–15.